

DNA 错配修复系统研究进展*

毕利军^{1, 2)} 周亚凤¹⁾ 邓教宇¹⁾ 张先恩¹⁾** 张成刚²⁾

(¹⁾中国科学院武汉病毒研究所, 武汉 430071; ²⁾中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110015)

摘要 DNA 错配修复 (mismatch repair, MMR) 系统广泛存在于生物体中. 从原核生物大肠杆菌到真核生物及人类, MMR 系统有不同的组成成分和修复机制. 人体内 MMR 基因缺陷会造成基因组的不稳定并诱发遗传性非息肉型直肠癌以及其他自发性肿瘤. 大肠杆菌 MMR 系统中的 MutS 蛋白可特异识别错配或未配对碱基, 目前已经发展了多种基于 MutS 蛋白的基因突变/多态性检测技术.

关键词 错配修复机制, MutS 蛋白, 肿瘤, 基因突变/多态性检测技术

学科分类号 Q81

DNA 错配修复 (mismatch repair, MMR) 系统广泛存在于生物体中, 是细胞复制后的一种修复机制, 起维持 DNA 复制保真度, 控制基因变异的作用. MMR 系统首先是在原核生物中发现的^[1], 随后在真核生物及人类细胞中也相继发现与 MMR 密切相关的同源基因. 近年来, MMR 系统的研究越来越受到学者的重视, 对 MMR 作用机制及组成该系统的几种酶蛋白结构与功能方面的研究不断深入, 为 MMR 系统相关的应用研究奠定了理论基础. 目前, DNA 错配修复蛋白已被引入应用领域. MutS 蛋白对错配或未配对碱基的特异识别和结合功能使其成为一种具有潜力的研究基因组多态性、检测及定位突变的工具蛋白; 大肠杆菌错配切割酶 MutH 对错配碱基的高度特异性和敏感性识别, 也显示了 Mut 家族在突变检测中的应用潜能. 可以预见, 随着人类基因组计划的开展和深入, 与疾病相关的各种突变和多态性位点将不断被发现, MMR 系统将具有更加广阔的应用前景.

1 MMR 系统的组成及分子作用机制

在大肠杆菌细胞中, 这种被称作 MutLHS 途径的 MMR 系统包括 MutS, MutL, MutH 等. MutS 蛋白是 MutLHS 系统中关键的点识别成分, 它首先识别错配或未配对碱基并与之结合, 然后 MutL 参与形成复合体 “MutL-MutS-DNA”, 并增加 MutS-DNA 复合体的稳定性, 形成的复合体激活 MutH 的核酸内切酶活性, 在错配位点附近 d (GATC) 序列处将无甲基化的一股 DNA 链切割. 然后核酸外切酶在解螺旋酶及 SSB 蛋白质的协助下, 将无甲基化的这一股从 GATC 位点至错配位

点整段去除. 若被切割的 GATC 位点在错配位点的 3' 端, 由核酸外切酶 (exo) I 从 3' 至 5' 端将核酸链降解. 若被切割的 GATC 位点在错配位点的 5' 端, 由 exo VII 或 RecJ 执行. 最后, DNA 聚合酶 III 及 DNA 连接酶根据模板股的序列填补新股被切除的部分, 包括错配或未配对的碱基. GATC 位点与错配位点的距离可能长达 1 000 个碱基以上. 因此, 为了修复错配的碱基, 有时候需要重新合成 1 000 个以上的碱基. 大肠杆菌 DNA 错配修复机制模式见图 1.

酵母的 MMR 系统中有 6 个 MutS 同源物 (MSH1, MSH2, MSH3, MSH4, MSH5, MSH6), 4 个 MutL 同源物 (PMS1, MLH1, MLH2, MLH3)^[2]. 其中: MSH1 与线粒体错配修复过程有关, 对维持线粒体 DNA 复制的高保真度起重要作用; MSH2 为核错配修复基因, 它和 MutL 同源物 PMS1、MLH1 在核错配修复过程中是必不可少的^[3]; MSH3 除了能与 MSH2 形成二聚体在错配修复过程中起识别作用外, 还具有维持简单重复序列稳定性的作用; MSH4 和 MSH5 虽为 MutS 同源基因, 但并不参与错配修复活动, 而是与减数分裂重组事件有关^[4]; MSH6 能与 MSH2 形成二聚体 MutSa 共同起错配结合作用.

涉及人类 DNA 错配修复的主要有 6 个蛋白质, 即 hMSH2、hMSH3、hMSH6、hMLH1、

* 国家自然科学基金资助项目 (30270306)、国家“九五”攻关项目和中国科学院“九五”重大项目 (KSCX1-06-01).

** 通讯联系人.

Tel: 027-87641492, E-mail: x. zhang@pentium.whiov.ac.cn

收稿日期: 2002-07-15, 接受日期: 2002-09-12

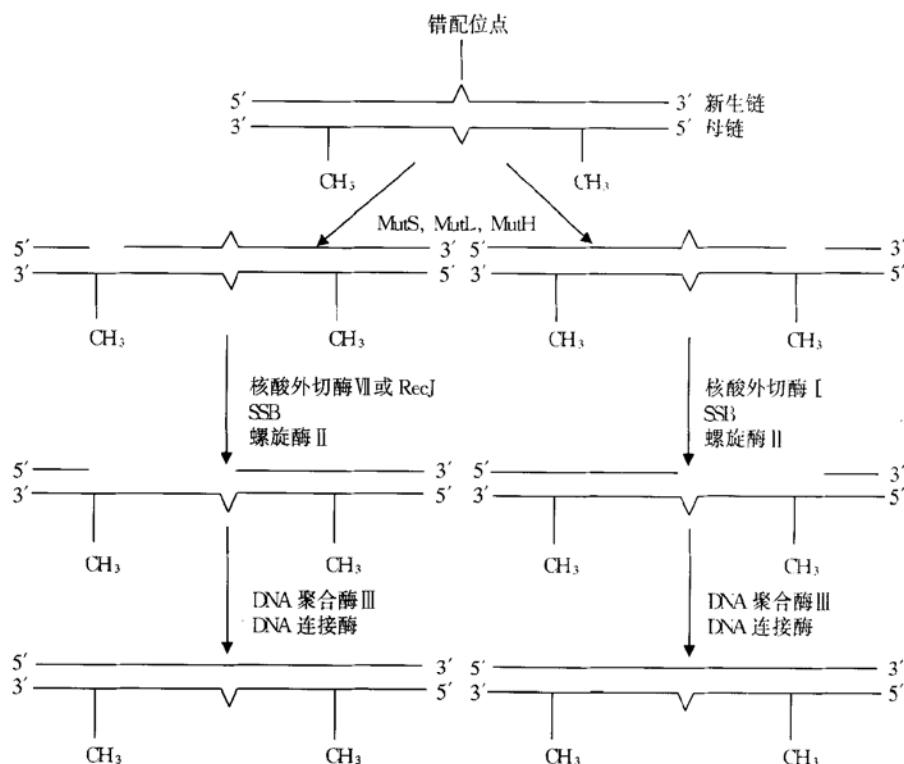
Fig 1 Mechanism of DNA mismatch repair in *E. coli*

图 1 大肠杆菌错配修复机制模式

hMLH3、hPMS1. 与大肠杆菌 MutS 蛋白类似的二聚体有 hMutS α 和 hMutS β 两种, 复合物成分分别为 hMSH2/hMSH6 和 hMSH2/hMSH3^[5], 前者与单个碱基错配及一个碱基的缺失/插入错配位置结合, 后者与 2~4 甚至更多个碱基的缺失/插入错配位置结合. 可见, 在人类 DNA 错配修复过程中, 与错配结合有关的 hMSH2 是必需的, 而 hMSH6 和 hMSH3 的功用则有一定的互补性. 人

类 MMR 系统的运行与大肠杆菌大致相同, 不同之处在于前者区分新生链和母链的信号仅仅是新生链中的一个位置恰当的单链缺口, 而不是未甲基化的腺嘌呤. 人类 DNA 错配修复机制模式见图 2, hMSH2 与 hMSH6 结合形成异源二聚体 hMutS α . hMSH2 与 hMSH3 结合形成异源二聚体 hMutS β , 两个异源二聚体均可识别新合成的 DNA 核苷酸链上的碱基错配, 并与错配位点结合. hMLH1 和

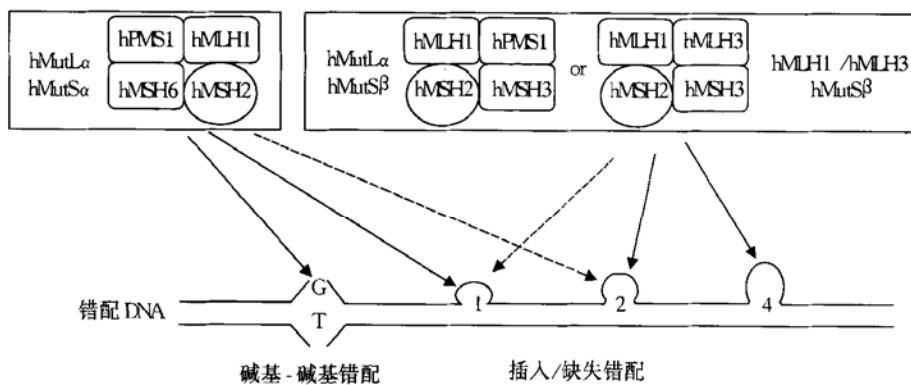


Fig 2 Mechanism of DNA mismatch repair in humans

图 2 人类错配修复机制模式

hMSH2 与 hMSH6 结合形成异源二聚体 hMutS α ; hMSH2 与 hMSH3 结合形成异源二聚体 hMutS β ; hMLH1 和 hPMS1 结合形成 hMutL α 二聚体. 1: 一个碱基插入错配; 2: 两个碱基插入错配; 4: 四个碱基插入错配.

hPMS1 结合形成 hMutLa 二聚体, 与结合到 DNA 链上的 hMutSa 或 hMutSb 形成一种暂时性的复合物, 从而启动错配修复, 与有关的酶相互配合, 切除含有错配碱基的一段 DNA 链, 以代替被切除的 DNA 链, 从而完成含错配碱基 DNA 核酸链的修复。

2 DNA 错配修复蛋白的结构与功能研究

Obmolova 等^[6]指出, 嗜热水生菌 MutS 蛋白是由两个亚基通过 C 端的螺旋-转角-螺旋结构之间形成氢键组成同源二聚体, 单个亚基形似一逗号 (图 3a), 由 I、II、III、IV、V 等 5 个区域组成, 区域 I、II、IV、V 由 α 螺旋/ β 折叠构成, 而区域 III 则完全是 α 螺旋。区域 I 又称错配结合区, 但两个亚基中只有其中一个区域 I 能与错配 DNA 特异结合, 另一个亚基则只能与 DNA 松散结合。区域 II 又称连接区, 由 4 个 α 螺旋包围的平行 β 折叠结构将区域 I 和 III 连接起来。区域 III 是 MutS 蛋白的结构中心, 它通过肽键与区域 II、IV、V 直接相连。区域 IV 又称锁状区, 由 4 个反平行的 β 折叠组成, 参与错配的识别与结合。区域 V 是识别 DNA 错配碱基的功能区, 且有 ATPase 活性。

MutS 蛋白与 DNA 的结合首先由区域 IV 识别, 但它与 DNA 的结合有一定的限度, 并且是序列依

赖性的。非错配结合亚基的区域 IV 跨越 DNA 错配区域的大沟, 但错配结合亚基的区域 IV 却位于大沟的一侧。MutS 蛋白表面带大量正电荷, 而区域 IV 作为它的一部分将带正电表面展现给 DNA, 从而与 DNA 的磷酸盐形成盐桥。MutS 蛋白识别、结合错配 DNA 主要是通过三个反应完成的。MutS 蛋白的 Glu38 与错配碱基 G10 和 T22 形成氢键。Asp35 与错配碱基 G9 形成氢键。由于错配或未配对而使 DNA 主链变得柔软, 错配结合亚基区域 I 的 Phe36 乘机嵌入 DNA。MutS 蛋白与错配 DNA 的结合 (图 3b) 显示了这种结合作用的非对称性, 也说明了 MutS 的同源二聚体其实在结构水平是以一种异源二聚体的形式作用的。Lamers 等的报道也揭示大肠杆菌 MutS 蛋白与 G:T 错配碱基结合的非对称性, G:T 错配会诱导自身的 ATP 活性, 摄入 ATP, 但 ATP 酶区域在两个亚基中还不相同。这些 DNA, ATP 结合区域的非对称性也许就能解释 MutS 对 DNA 错配碱基特异性的原因了。Drotschmann 等^[7]研究发现: MutS 蛋白 A 亚基中与 DNA 结合的几个氨基酸在 MSH6 中是保守的, 而在 MSH2 中无保守性, 暗示了 MSH6 是 MutS 蛋白 A 亚基的功能同源物, 而 MSH2 则可能是 MutS 蛋白 B 亚基的功能同源物。

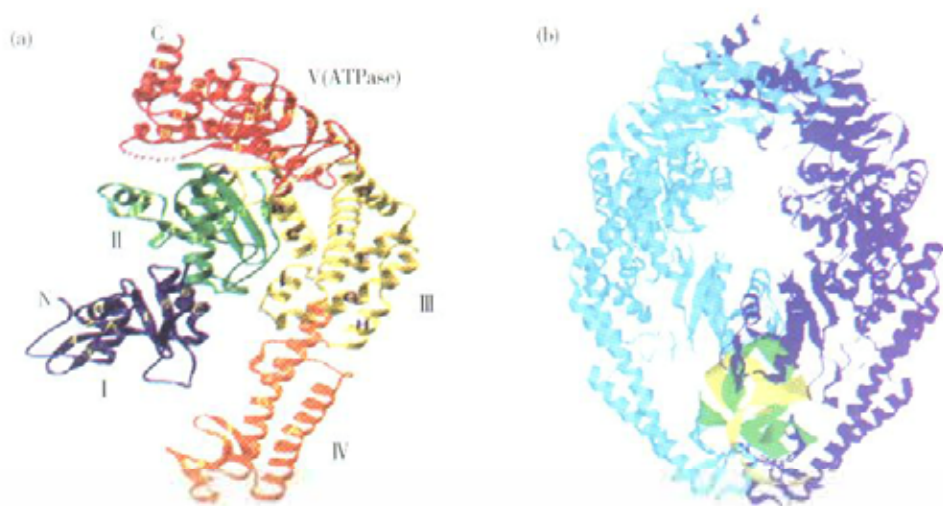


Fig. 3 Crystal structure of a TAQ MutS subunit (a) and the TAQ MutS-DNA complex (b)

图 3 嗜热水生菌 MutS 蛋白亚基(a) 和 MutS-DNA 复合物(b) 的晶体结构

(a) 嗜热水生菌 MutS 蛋白亚基的晶体结构。从 N 端到 C 端 5 个区域依次用蓝色、绿色、黄色、橘红色和红色表示。(b) 嗜热水生菌 MutS-DNA 复合物的晶体结构, MutS 亚基分别用浅蓝色和蓝色表示, DNA 的两条链分别用黄色和绿色表示。

大肠杆菌 MutL 蛋白是分子质量为 70 ku 的同源二聚体多肽^[8]。真核生物 MutL 同源物有三种,

其组成分别为 MLH1/PMS1, MLH1/MLH2 和 MLH1/MLH3。MutL 及其同源物 N 端 300~400

个残基具有高度的保守性, 但 C 端序列差异很大. MutL 蛋白 N 端 40 ku 部分 (LN40) 的晶体结构已被解析出来, 它由两个区域组成, 残基 20~200 形成一个区域, 残基 207~331 形成另一区域, 两个区域均为 α 螺旋/ β 折叠结构. 无 DNA 存在时, LN40 为单体形式, 晶体结构中 20% 的残基呈无序状态; 有 DNA 存在时, LN40 为二聚体形式. LN40 蛋白具有 ATPase 活性, 其单体与二聚体之间的构象变化是通过与 ATP 的结合与水解完成的.

在错配修复系统中, MutL 及其同源物通过与 MutS、MutH、UvrD 的相互作用担任“分子伴侣”的角色. MutL 能增加 MutS-DNA 复合物的稳定性、激活 MutH 的核酸外切酶活性并能激活由 UvrD 催化的解链反应. Grilley 等^[9]利用足迹法研究证明了 MutL 与 MutS-DNA 复合物的相互作用.

大肠杆菌 MutH 蛋白是分子质量为 28 ku 的单体蛋白, 为镁离子依赖性核酸内切酶, 其本身的酶活力很弱, 但有 MutS、MutL、ATP 和含有错配碱基对的 DNA 双链存在时, 其活力可增加 50 倍^[10]. 蛋白质序列和结构分析表明, MutH 在氨基酸序列上与 II 型限制性核酸内切酶 *Sau3AI* 同源, 而其三级结构与一些 II 型核酸内切酶如 *Pvu II* 的结构相似 (图 4). MutH 和 *Sau3AI* 都能识别

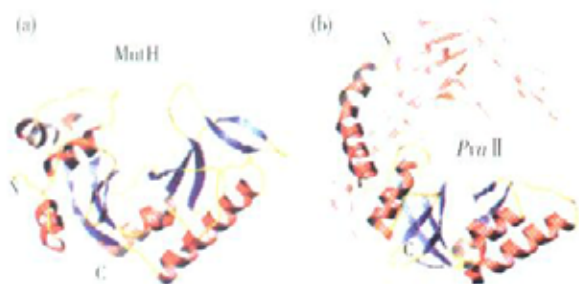


Fig. 4 Structural comparison between MutH and *Pvu II*

图 4 MutH 与 *Pvu II* 的结构对比

d (GATC) 序列, 并从 5' 端开始切除直到 G, 不同的是 MutH 只能切除未修饰或半甲基化双链中的未甲基化链, 而 *Sau3AI* 的切割活性则与链的甲基化状态无关. MutH 在甲基导向错配修复中是一特异的调控核酸内切酶, 其结构与 *Pvu II* 类的限制性内切酶结构还略有不同: a. MutH 是一单体, 能切割单链 DNA 启动错配修复, 而 *Pvu II* 的活性形式是二聚体, 切割双链 DNA. b. MutH 的活性位点分布在两个结构域, 而 *Pvu II* 的亚基仅有一个结构域, 活性位点定位在蛋白质 N 端部分, 其 C

端部分比 MutH 的 C 端要紧凑得多, 并与 N 端区域紧紧相连, 以致于不能绕轴彼此转动. c. *Pvu II* 与 DNA 的结合沟是在两个亚基之间, 而 MutH 与 DNA 的结合沟形成在两个亚区域之间.

3 MMR 与肿瘤

MMR 基因的缺陷将导致复制后 MMR 功能的丧失, 进而增加细胞的自发突变频率而使细胞出现所谓的突变子表型. 突变子表型被认为能够导致多步癌变过程所需的多重突变, 并使得基因突变的事件不断放大积累, 使大量错误信息遍布于整个基因组 (包括癌基因、抗癌基因以及其他与肿瘤关系密切的基因), 最终导致肿瘤的发生. MMR 基因缺陷主要通过 3 条途径促进肿瘤的发生与发展^[11]: a. 增加癌基因和肿瘤抑制基因的突变频率. b. 使一些重要的功能基因发生遗传不稳定性. c. 通过一些化学物质 (如烷化剂等) 对细胞的损伤导致肿瘤发生. 研究发现, 肠道中确实存在烷化剂, 由于对烷化剂耐受, MMR 功能缺陷细胞具有生长优势, 加速了肿瘤的发生.

Liu 等^[12]的研究发现造成遗传性非息肉性结肠直肠癌 (HNPCC) 的原因绝大部分归于 MMR 基因的突变, 尤其是 hMSH2 和 hMLH1 的突变是造成 HNPCC 发生的主要原因. Ionov 等^[13]在散发性结肠癌研究中也发现有 MMR 系统的缺陷或丧失, 且 hMSH2 和 hMLH1 有不同的突变率. 除了在 HNPCC 肿瘤组织和散发性结肠癌组织中检测到了 MMR 基因存在突变之外, 在其他一些散发性肿瘤组织中也检测出存在 MMR 基因突变, 如胃癌、腺癌、子宫内膜癌、淋巴细胞白血病和卵巢癌等.

4 MMR 系统的应用

4.1 MMR 基因的应用

HNPCC 是一种常染色体显性遗传性疾病, 是由于 MMR 基因突变引起的. 目前已定位的导致 HNPCC 发生的基因有 hMSH2、hMLH1、hPMS1 等. 近年来对 MMR 基因的深入研究以及突变检测方法的发展, 为 HNPCC 肿瘤高危人群的筛选提供了可靠的分子检测手段, 使有癌症易感遗传背景个体的早期诊断与监护成为可能. 另外, MMR 基因异常的人多个脏器同时发生原发性肿瘤的可能性高, 对这些患者进行检测也是十分必要的.

研究表明, DNA 作为多种抗癌药物攻击的靶分子, 其损伤修复能力异常, 是导致各种直接或间

接引起 DNA 损伤的抗癌药产生耐药性的重要机制^[14]。因此, 从研究 MMR 基因入手, 筛选与 DNA 修复有关的选择性抑制剂能降低肿瘤的多药耐药性, 增加化疗效果, 为肿瘤治疗和逆转肿瘤耐药性开辟新途径。

4.2 DNA 错配修复蛋白的应用

Bai 等^[15]利用免疫组织化学方法检测了多种肿瘤病变中 MMR 基因 MLH1 和 MSH2 产物的表达。结果发现, 不同的 MMR 基因产物在肿瘤良恶性病变中表达存在差异。MLH1 在良性病变中的表达较恶性病变为高, 这说明 MLH1 的高表达在一定程度上可能会抑制 DNA 突变或损伤所造成的细胞恶变趋势, 进而抑制恶性肿瘤的发生。而 MSH2 的表达则与 MLH1 相反, 这很可能是因为 MSH2 基因自身发生突变, 且编码出的产物促进肿瘤发生。通过对 MMR 基因产物表达与肿瘤的良恶性及恶性程度的研究, 探讨出了二者的相关性。通过对 MMR 基因表达产物的检测, 可以初步诊断患者的肿瘤良恶性及恶性程度。

DNA 错配修复蛋白 MutS 能单独识别和结合含有错配或未配对碱基的核苷酸链, 是一种极具潜力的研究基因组多态性、检测及定位突变的工具蛋白。随着对 MutS 蛋白的不断了解, 多种基于 MutS 蛋白的突变/多态性检测技术相继出现。

4.2.1 凝胶滞后分析 (gel retardation assay): 待测基因组 DNA 用同位素标记引物扩增, 扩增产物经变性、复性后形成异源双链, 异源双链含有的错配或未配对碱基能与 MutS 蛋白结合成大分子复合物, 其迁移速度比未结合 MutS 蛋白的核酸链慢, 经过一定时间电泳, 通过放射自显影得到的电泳图谱即可区分突变型与野生型^[16]。

4.2.2 固相捕获分析 (solid-phase capturing assay): 将 MutS 蛋白固定在支撑物如硝酸纤维素膜、尼龙膜或聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上。5' 端被生物素标记的双链 DNA 经变性、复性后, 在链霉亲和素介导下与 MutS 蛋白结合, 通过增强化学发光法检测信号^[17]。

4.2.3 错配保护分析 (mismatch protection assay): 将突变和野生型 DNA 序列分别变性, 混合, 复性, 形成相应的异源或同源双链, MutS 蛋白结合到异源双链分子的错配碱基后, 可保护该双链不被 T7DNA 聚合酶的 3' → 5' 核酸外切酶活性降解, 而未结合 MutS 蛋白的同源双链则被降解^[18]。

4.2.4 MutLHS 切割分析 (mutLHS cleaving assay):

利用大肠杆菌甲基导向 MMR 系统 MutLHS 切割原理, 设计未标记的突变 DNA, 将其分别与不同来源的基因组 γ -³²P 同位素标记的 DNA 一起变性、复性后形成同源或异源双链, MutS 识别、结合错配碱基, 在 MutL, ATP, Mg²⁺ 的存在下激活 MutH 核酸内切酶活性, 在错配位点附近 d (GATC) 序列 5' 端切割未甲基化的 DNA 双链, 通过放射自显影电泳图谱可判断错配的有无及错配位点的大致位置^[19]。

4.2.5 MutS 光学生物传感器 (optical biosensor): 此方法基于表面等离子共振 (surface plasmon resonance, SPR) 原理。将单链 DNA 固定在光学生物传感器的敏感元件表面, 靶基因 DNA 与固定的单链核酸变性、复性后形成同源或异源杂交物, 而后 MutS 蛋白经过被固定的双链杂交物, MutS 蛋白与杂交物的结合或解离行为能引起表面离子共振, 此光学变化被检测、记录^[19]。

4.2.6 MutSb 磁珠扫描技术 (magnetic bead scanning): 将 MutS 与生物素肽的融合蛋白 MutSb 固定到链霉亲和素包被的磁珠上, 再与变性、复性处理后用放射性同位素标记的 PCR 产物温育, 洗脱, 悬浮后用闪烁仪计数^[20]。

4.2.7 基因组错配扫描 (genomic mismatch scanning, GMS): GMS 是利用大肠杆菌错配修复蛋白进行基因连锁分析的方法^[21]。将两患者的 DNA 用一种限制性内切酶 (如 *Pst* I) 切成片段, 将其中一个患者的片段甲基化后, 使两者的 DNA 变性、混合、复性, 则混合物中既有完全甲基化和完全非甲基化的同源双链, 又有一条甲基化链和一条非甲基化链组成的异源双链, 加入能使完全甲基化和完全非甲基化双链特异性降解的限制性内切酶和外切酶, 分离出余下的未降解异源双链, 再加入大肠杆菌错配修复蛋白 MutLHS 及外切酶, 在含有错配的片段打开缺口并将其降解, 从而相对增加了两患者之间的同一等位基因区段。将反应产物与基因组 DNA 芯片杂交, 即可知道两患者的等位基因区段在基因组中的定位。

4.2.8 微电极芯片快速突变扫描 (rapid parallel mutation scanning of gene fragments using a microelectronic protein-DNA chip format): 将单链 DNA 固定在微电极芯片表面, 靶基因 DNA 与固定的单链核酸杂交后形成同源或异源双链。用化学方法进行 Cy5 荧光标记的 DNA 错配修复蛋白 MutS 仍可特异性识别、结合含有错配碱基的异源双链,

通过检测与样品结合的 MutS 的荧光信号鉴定突变型和野生型^[22].

参 考 文 献

- Modrich P. Mechanisms and biological effects of mismatch repair. *Annu Rev Genet*, 1991, **25**: 229~ 253
- Kolodner R D, Marsischky G T. Eukaryotic DNA mismatch repair. *Curr Opin Genet*, 1999, **9** (1): 89~ 96
- Ade J, Haffani Y, Beizile F J. Functional analysis of the *Arabidopsis thaliana* mismatch repair gene MSH2. *Genome*, 2001, **44** (4): 651~ 657
- Kneitz B, Cohen P E, Avdievich E, *et al.* MutS homolog 4 localization to meiotic chromosomes is required for chromosome pairing during meiosis in male and female mice. *Genes Dev*, 2000, **14** (9): 1085~ 1097
- Kuraguchi M, Yang K, Wong E, *et al.* The distinct spectra of tumor-associated Apc mutations in mismatch repair-deficient Apc1638N mice define the roles of MSH3 and MSH6 in DNA repair and intestinal tumorigenesis. *Cancer Res*, 2001, **61** (21): 7934~ 7942
- Obmolova G, Ban C, Hsieh P, *et al.* Crystal structures of mismatch repair protein MutS and its complex with a substrate DNA. *Nature*, 2000, **407** (6805): 703~ 710
- Drotschmann K, Yang W, Brownell F E, *et al.* Asymmetric recognition of DNA local distortion. Structure-based functional studies of eukaryotic Msh2-Msh6. *J Biol Chem*, 2001, **276** (49): 46225~ 46229
- Pang P P, Lundberg A S, Walker G C. Identification and characterization of the mutL and mutS gene products of *Salmonella typhimurium* LT2. *J Bacteriol*, 1985, **163** (3): 1007~ 1015
- Grilley M, Welsh K M, Su S S, *et al.* Isolation and characterization of the *Escherichia coli* mutL gene product. *J Biol Chem*, 1989, **264** (2): 1000~ 1004
- Bhagwat A S, Lieb M. Cooperation and competition in mismatch repair: very short-patch repair and methyl-directed mismatch repair in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 2002, **44** (6): 1421~ 1428
- Kolodner R D, Hall N R, Lipford J, *et al.* Structure of the human MLH1 locus and analysis of a large hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma kindred for mlh1 mutations. *Cancer Res*, 1995, **55** (2): 242~ 248
- Liu B, Parsons R E, Hamilton S R, *et al.* hMSH2 mutations in hereditary nonpolyposis colorectal cancer kindreds. *Cancer Res*, 1994, **54**: 4590
- Ionov Y, Peinado M A, Malkhosyan S, *et al.* Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature*, 1993, **363** (6429): 558~ 561
- Fink D, Aebi S, Howell S B. The role of DNA mismatch repair in drug resistance. *Clin Cancer Res*, 1998, **4** (1): 1~ 6
- 白洁, 李雪飞, 黄波, 等. DNA 错配修复基因产物表达与肿瘤恶性程度相关性的初步探讨. *大连医科大学学报*, 1998, **20** (4): 24~ 25
- Bai J, Li X F, Huang B, *et al.* Journal of Dalian Medical University, 1998, **20** (4): 24~ 25
- Lishanski A, Ostrander E A, Rine J. Mutation detection by mismatch binding protein MutS in amplified DNA application to the cystic fibrosis gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91** (7): 2674~ 2678
- Wagner R, Debbie P, Radman M. Mutation detection using immobilized mismatch binding protein (MutS). *Nucleic Acids Res*, 1995, **23** (19): 3944~ 3948
- Ellis L A, Taylor G R, Banks R, *et al.* MutS binding protects heteroduplex DNA from exonuclease digestion *in vitro*: a simple method for detecting mutations. *Nucleic Acids Res*, 1994, **22** (13): 2710~ 2711
- Smith J, Modrich P. Mutation detection with MutH, MutL, and MutS mismatch repair proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (9): 4374~ 4379
- Gotoh M, Hasebe M, Ohira T, *et al.* Rapid method for detection of point mutations using mismatch binding protein (MutS) and an optical biosensor. *Genet Anal*, 1997, **14** (2): 47~ 50
- Nelson S F, McCusker J H, Sander M A, *et al.* Genomic mismatch scanning: a new approach to genetic linkage mapping. *Nat Genet*, 1993, **4** (1): 11~ 18
- Behrendorf H A, Pignot M, Windhab N, *et al.* Rapid parallel mutation scanning of gene fragments using a microelectronic protein-DNA chip format. *Nucleic Acids Res*, 2002, **30** (14): e64

Advances of Researches on DNA Mismatch Repair System*

BI Li-Jun^{1,2)}, ZHOU Ya-Feng¹⁾, DENG Jiao-Yu¹⁾, ZHANG Xian-En^{1)**}, ZHANG Cheng-Gang²⁾

(¹⁾ Wuhan Institute of Virology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China;

(²⁾ Shenyang Institute of Applied Ecology, The Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110015, China)

Abstract DNA mismatch repair system exists in nearly all organisms. They have different components and mechanisms from prokaryote *E. coli* to eukaryote and human. Defects in human mismatch repair genes cause genome instability and hereditary nonpolyposis colon cancer (HNPCC) and others tumors. MutS in *E. coli* MMR system can specifically recognize mispaired or unpaired base and has been developed into powerful tools for detecting gene mutations and polymorphisms.

Key words mismatch repair mechanism, MutS, tumor, detecting gene mutations and polymorphisms

* This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (30270306), The National 9th Five Years Plan Special Research Programs of China and The 9th Five Years Plan Key Research The Chinese Academy of Sciences (KSCX1-06-01).

** Corresponding author. Tel: 86-27-87641492, E-mail: x. zhang@pentium.whiov.ac.cn

Received: July 15, 2002 Accepted: September 12, 2002